

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
  - TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
  - FADED TEXT
  - ILLEGIBLE TEXT
  - SKEWED/SLANTED IMAGES
  - COLORED PHOTOS
  - BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
  - GRAY SCALE DOCUMENTS
- 

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**AI****PCT**

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>C07J 1/00, 31/00, 41/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/55496</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 10. Dezember 1998 (10.12.98)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/DE98/01392 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 20. Mai 1998 (20.05.98) <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 197 23 794.0      6. Juni 1997 (06.06.97)      DE <b>(71) Anmelder:</b> JENAPHARM GMBH & CO. KG [DE/DE]; Otto-Schott-Strasse 15, D-07745 Jena (DE). <b>(72) Erfinder:</b> DROESCHER, Peter; Lessingstrasse 7, D-99425 Weimar (DE). MENZENBACH, Bernd; Anna-Siemsen-Strasse 4, D-07745 Jena (DE). RÖMER, Wolfgang; Iltisweg 39, D-07749 Jena (DE). SCHNEIDER, Brigitt; Damaschkeweg 19, D-07745 Jena (DE). ELGER, Walter; Schorlemer Allee, D-14195 Berlin (DE). KAUF- MANN, Günter; Schillbachstrasse 41, D-07743 Jena (DE). <b>(74) Anwalt:</b> CRAMER, Eva-Maria; Jenapharm GmbH & Co. KG, Patentabteilung, Otto-Schott-Strasse 15, D-07745 Jena (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen</i> <i>Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen</i> <i>eintreffen.</i>
<b>(54) Title:</b> NON-ESTROGENIC ESTRADIOL DERIVATIVES WITH AN ANTIOXIDANT EFFECT <b>(54) Bezeichnung:</b> NICHTESTROGENE DERIVATE DES ESTRADIOLS MIT ANTIOXIDATIVER AKTIVITÄT <b>(57) Abstract</b> <p>New non-estrogenic estradiol derivatives with an antioxidant effect are disclosed. These estradiol derivatives, which have no estrogenic effect but a high antioxidant effect, are potentially useful as non-estrogenic antioxidants, in particular for postmenopausal women and for men. Moreover, the disclosed compounds are potential aromatase and sulfatase inhibitors.</p>		
<b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft neue nichtestrogene Derivate des Estradiols mit antioxidativer Aktivität. Die erfindungsgemäßen Estradiolderivate, die keine Estrogenität und hohe antioxidative Aktivität besitzen, sind potentiell zum Einsatz als nichtestrogene Antioxidanzen, insbesondere zur Anwendung bei der postmenopausalen Frau und beim Mann geeignet. Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Verbindungen mögliche Hemmer der Aromatase und Sulfatase.</p>		

# LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes-zur-Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

## Nichtestrogene Derivate des Estradiols mit antioxidativer Aktivität

Die Erfindung betrifft neue nichtestrogene Derivate des Estradiols mit antioxidativer Aktivität.

5

Aus der Patentliteratur - DE 43 38 314 C1 - ist bekannt, daß Estradiol und seine bekannten Derivate mit phenolischem A-Ring und 17-Hydroxygruppe grundsätzlich antioxidative Aktivität besitzen.

10 In Abhängigkeit von der Struktur zeigen diese Substanzen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Bindungsaffinität zum Estrogenrezeptor.

Die hohe Affinität des natürlichen  $17\beta$ -Estradiols (100%) sinkt bei Strukturveränderungen, wie Isomerisierungen oder Derivatisierungen, in der Regel deutlich ab.

15 Sie beträgt jedoch für  $17\alpha$ -Estradiol noch 23% und selbst für das Enantiomere des natürlichen Estradiols,  $8\alpha,9\beta,14\beta$ -Estra-1,3,5(10)-trien-3,17 $\alpha$ -diol (ent-Estradiol), noch 8.6%.

Diese Größenordnung ist bei Verabreichung der Substanzen mit dem Ziel, die körpereigene antioxidative Kapazität zu erhöhen, abhängig von  
20 Dosis- und Applikationsdauer sowie dem Geschlecht, nicht immer tolerierbar.

~~Führt man entsprechend DE 43 38 316 A1 einen großen Substituenten~~  
am Kohlenstoffatom 17 ein, ist die Bindungsaffinität zwar unter Erhö-  
25 hung der antioxidativen Aktivität, beispielsweise beim  $17\alpha$ -4'-Dimethylamino-phenylmethyl-estra-1,3,5(10),9(11)-tetraen-3,17-diol, bis auf weniger als 1% senkbar, in vivo wurde jedoch selbst für den entsprechenden 3-Methylether, 3-Methoxy- $17\alpha$ -4'-Dimethylamino-phenylmethyl-estra-1,3,5(10)-trien-17ol, eine hohe Estrogenität gefunden.

30

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Derivate des Estradiol mit antioxidativer Aktivität zu finden, die keine estrogene Wirksamkeit besitzen.

35

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß nichtestrogene Derivate des Estradiol mit antioxidativer Aktivität der allgemeinen Formeln I und II gefunden wurden.

- 5 Bevorzugte Verbindungen sind:
- 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\alpha$ -diol
- 4-Methyl-estra-1,3,5(10),6-tetraen-1,17 $\alpha$ -diol
- 4-Methyl-estra-1,3,5(10),6-tetraen-1,17 $\beta$ -diol
- 4-Methyl-estra-1,3,5(10),6,8-pentaen-1,17 $\beta$ -diol
- 10 4-Methyl-estra-1,3,5(10),6,8-pentaen-1,17 $\alpha$ -diol
- 17 $\alpha$ -4'-Hydroxy-phenylmethyl-4-methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol
- 17 $\alpha$ -4'-Hydroxy-phenoxy-methyl-4-methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol
- 17 $\alpha$ -4'-Hydroxy-thiophenoxy-methyl-4-methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol
- 15 17 $\alpha$ -4'-Dimethylamino-phenylmethyl-4-methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol
- 17 $\alpha$ -3',5'-Dimethyl-4'-hydroxy-phenylmethyl-4-methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol
- 20 17 $\alpha$ -3',5'-Dimethyl-4'-hydroxy-phenylmethyl-4-methyl-estra-1,3,5(10),6-tetraen-1,17 $\beta$ -diol
- 17 $\alpha$ -4'-Hydroxy-phenoxy-methyl-4-methyl-estra-1,3,5(10),6-tetraen-1,17 $\beta$ -diol
- 
- 25 Es wurde nunmehr völlig überraschend gefunden, daß die Verbindungen, Regioisomere des Estradiols und ihre Derivate, die eine phenolische Hydroxygruppe am Kohlenstoffatom 1 und eine Hydroxygruppe am Kohlenstoffatom 17 besitzen, weder in vitro noch in vivo estrogen sind - aufgezeigt in Tabelle 1 und 2.
- 30 Gleichzeitig besitzen die Verbindungen eine im Vergleich zu Estradiol deutlich gesteigerte antioxidative Aktivität - demonstriert in Tabelle 3 und 4 mittels verschiedenartiger in-vitro-Tests.
- Da die Substanzen ein intaktes Steroidgerüst und vergleichbare Polarität zu den natürlichen Estrogenen aufweisen, ist zu erwarten, daß auch
- 35 die Fähigkeiten zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke und zur Mem-

bran-Rezeptor-Wechselwirkung, wie sie in den natürlichen Estrogenen besteht, erhalten bleiben.

Die erfindungsgemäßen Estradiolderivate, bei denen die Estrogenität  
5 unter Verbesserung der antioxidativen Aktivität praktisch vollständig entfernt wurde, sind potentiell zum Einsatz als nichtestrogene Antioxidanzien, insbesondere zur Anwendung bei der postmenopausalen Frau und beim Mann geeignet.

Fehlende Estrogenität ist auch dann von Vorteil, wenn die Hemmung  
10 Estrogene generierender Enzyme Ziel einer therapeutischen Strategie ist, beispielsweise die Hemmung von Aromatase und Sulfatase.

Die Enzyme Aromatase und Sulfatase setzen Estron aus Estronsulfat frei.

Von Sulfamaten bisher bekannter phenolischer Steroide ist nach M. J.  
15 Reed et al., Steroid sulphatase inhibitor: a new endocrine therapy, Drugs Future 19 (1994), S. 673 und W. Elger et al., Sulfamates of various estrogens are prodrugs with increased systemic and reduced hepatic estrogenicity at oral application, J. Steroid Biochem. Biol., 55 (1995), S. 395-403 eine starke Hemmung der Sulfatase bekannt  
20 Diese führt in vitro und in vivo zur Hemmung der Freisetzung von Estron aus Estronsulfat.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind somit auch potentielle Hemmer der Aromatase und Sulfatase.

---

25

Aussagen zur Estrogenität der erfindungsgemäßen Verbindungen werden nach Tabelle 1 über die Messung der Estrogen-Rezeptor-Bindung getroffen.

30 Als Vergleiche zu den erfindungsgemäßen Systemen dienen  
17 $\beta$ -Estradiol, 17 $\alpha$ -Estradiol, ent-17 $\beta$ -Estradiol (J 855), 3-Methoxy-17 $\alpha$ -4'-dimethylamino-phenylmethyl-estra-1,3,5(10)-trien-17ol (J 848) und 17 $\alpha$ -4'-dimethylamino-phenylmethyl-estra-1,3,5(10),9(11)-tetraen-3,17-diol (J 844), ebenfalls in Tabelle 1 dargestellt und mit (x) gekennzeichnet.  
35

Tabelle 1  
Bindung zum Estrogenrezeptor  
ausgewählter Verbindungen

5

Verbindung		relative Bindungsaffinität z. Estr gen-Rezeptor [ % Bindung zum Estrogenrezeptor]
17 $\beta$ -Estradiol	(x)	100
17 $\alpha$ -Estradiol	(x)	22,8
ent-17 $\beta$ -Estradiol - J 855	(x)	8,6
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol - J 1178		0,04
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\alpha$ -diol - J 1179		< 0,03
3-Methoxy-17 $\alpha$ -4'-dimethylamino- phenylmethyl-estra-1,3,5(10)-trien-17ol - J 848	(x)	0,7
17 $\alpha$ -4'-dimethylamino-phenylmethyl-estra- 1,3,5(10),9(11)-tetraen-3,17-diol - J 844	(x)	0,7

Aus Tabelle 1 ist die nichtestrogene Wirksamkeit in vitro der erfindungsgemäßen Verbindungen im Vergleich zu den Referenzsubstanzen ersichtlich.

Weitere Aussagen zur Estrogenität werden anhand von Ergebnissen in vivo entsprechend dem Allen-Doisy-Test - demonstriert in Tabelle 2 - getroffen.

- 5    Tabelle 2 zeigt die Resultate der Estrogenitätsprüfung in vivo an ovariectomierten Ratten.

Estrogene führen bei ovariectomierten Nagern zu charakteristischen Veränderungen am Vaginalepithel. Es kommt zu einer starken Proliferation und Verhornung der oberen Zellagen. Diese Veränderungen sind  
10    im Zellbild von Vaginalabstrichen erkennbar.

Das Auftreten kernloser Hornschollen ist Ausdruck einer estrogenspezifischen Wirkung (Allen-Doisy Test).

Als Vergleiche zu den erfindungsgemäßen Systemen dienen

- 15    17 $\beta$ -Estradiol, 17 $\alpha$ -Estradiol, ent-17 $\beta$ -Estradiol (J 855) und 3-Methoxy-17 $\alpha$ -4'-dimethylamino-phenylmethyl-estra-1,3,5(10)-trien-17ol (J 848), ebenfalls in Tabelle 2 dargestellt und mit (x) gekennzeichnet.
-



5

10

15

20

25

30

35

Tabelle 2

Ergebnisse zur estrogenen Aktivität ausgewählter Verbindungen

Allen-Doisy-Test, einmalige subkutane Applikation d1, Abstriche d1-d4  
Vaginalverhornung Zyklusstadium 3 (Reagenten/Gruppe)

Substanz	0	0.03	0.1	0.3	1	3	10	30	100	300	1000	3000	10000
OVX-Kontr.	0 / 5												
17 $\alpha$ -E <sub>2</sub> (x)							0 / 6		6 / 6				
17 $\beta$ -E <sub>2</sub> (x)		1 / 5	5 / 5										
J 855 (x)											5 / 5		5 / 5
J 1178											0 / 5		1 / 5
J 1179													0 / 5
J 848 (x)								0 / 5		2 / 5			

Es ist aus Tabelle 2 ersichtlich, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen im Vergleich zu den Referenzsubstanzen selbst bei hohen Dosierungen keine estrogenen Wirksamkeit entfalten.

- 5 Die antioxidative Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen wird mittels Aussagen zur Eisen(II)sulfat-katalysierten Lipidperoxidationshemmung in synaptosomalen Membranfraktionen (Ratte) - dargestellt in Tabelle 3 - demonstriert.
- 10 Mit der Aussage zu den IC<sub>50</sub>-Hemmwerten wird die lipidperoxidationshemmende Wirkung der jeweiligen Verbindung charakterisiert. IC<sub>50</sub> gibt die Menge der zuzugebenden Substanz an, um eine 50%ige Hemmung der Lipidperoxidation zu erzielen (Tabelle 3).
- 15 Als Vergleiche zu den erfindungsgemäßen Verbindungen dienen 17 $\beta$ -Estradiol, 17 $\alpha$ -Estradiol und  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E), Butyrohydroxytoluen (BHT) als Standard, ebenfalls in Tabelle 3 dargestellt und mit (x) gekennzeichnet.

- 20 Tabelle 3  
Eisen(II)sulfat-katalysierte Lipidperoxidationshemmung  
ausgewählter Verbindungen

Verbindung		Lipidperoxidationshemmung [ IC <sub>50</sub> : $\mu$ Mol/l ]
17 $\beta$ -Estradiol	(x)	12,40
17 $\alpha$ -Estradiol	(x)	8,9
$\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E)	(x)	117,0
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol - J 1178		1,7
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\alpha$ -diol - J 1179		1,94

Verbindung	Lipidperoxidationshemmung [ IC <sub>50</sub> : µMol/l ]
------------	--

Butyrohydroxytoluen (BHT)	(x)	0,95
---------------------------	-----	------

Tabelle 3 verdeutlicht, daß natürliche Estrogene wirksame Inhibitoren der Bildung Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen (TBARS) in Prozessen der mit Fenton's Reagenz induzierten Lipidperoxidation sind. Demnach tragen bereits die antioxidativ wirkenden natürlichen Estrogene 17 $\beta$ -Estradiol und 17 $\alpha$ -Estradiol die Fähigkeit, die Lipidperoxidation in synaptosomalen Membran/Lipidfraktionen zu unterdrücken und in deren Konsequenz die Balance verschiedener Redoxprozesse aufrechtzuerhalten.

Es wurde gefunden, daß die Isomeren 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol (J 1178) und 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\alpha$ -diol (J 1179) diese Wirkung in erheblich stärkerem Maß zeigen.

Weiterhin wird die antioxidative Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen mittels Aussagen zur Hemmung der Fe(II)-Autooxidation und Stimulierung der Fe(III)-Reduktion - dargestellt in Tabelle 4 - aufgezeigt.

Als Vergleiche zu den erfindungsgemäßen Verbindungen dienten 17 $\beta$ -Estradiol, 17 $\alpha$ -Estradiol und Catecholestrogene, ebenfalls in Tabelle 4 dargestellt und mit (x) gekennzeichnet.

Tabelle 4

Hemmung der Fe(II)-Autooxidation und Stimulierung der Fe(III)-Reduktion ausgewählter Verbindungen

Verbindung		Fe(II)-Autooxidation Hemmung [ % ]	Fe(III)-Reduktion Stimulation [ % ]
17 $\beta$ -Estradiol	(x)	≤ 1	≤ 1
17 $\alpha$ -Estradiol	(x)	≤ 1	≤ 1

Verbindung		Fe(II)-Autooxidation Hemmung [ % ]	Fe(III)-Reduktion Stimulation [ % ]
2-Hydroxy-17 $\beta$ -estradiol	(x)	64,20	35,26
4-Hydroxy-17 $\beta$ -estradiol	(x)	59,51	32,71
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien- 1,17 $\beta$ -diol - J 1178		22,26	19,23
4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien- 1,17 $\beta$ -diol - J 1179		26,07	21,41

Tabelle 4 veranschaulicht, daß die „klassischen“ Estrogene  
17 $\beta$ -Estradiol und 17 $\alpha$ -Estradiol die getesteten Fe(II)-Autooxidations-  
prozesse nicht bzw. unwesentlich beeinflussen.

Im Vergleich dazu besitzen Verbindungen, wie die nichtöstrogenen Iso-  
meren 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol - J 1178 und 4-Methyl-  
estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol - J 1179 die Fähigkeit, Fe(II)-Autooxid-  
ationsprozesse zu hemmen.

Weiterhin ist ersichtlich, daß auch eine Stimulation der Fe(III)-Reduk-  
tion zu Fe(II) stattfindet und mit den Fe(II)-Autooxidationsergebnissen  
korrelieren.

Die vergleichsweise getesteten Catecholestrogene mit einer Hemmwir-  
kung von ca. 60% zeigen auf, daß die Verbindungen 4-Methyl-estra-  
1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol - J 1178 und 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-  
1,17 $\beta$ -diol - J 1179 gut antioxidativ wirksam sind.

Die gegenüber den natürlichen Estrogenen 17 $\beta$ -Estradiol und  
17 $\alpha$ -Estradiol wesentlich höhere antioxidative Aktivität der erfindungs-  
gemäßen Verbindungen wurde desweiteren an folgenden Modellen be-  
stätigt:

10

- Hemmung der Aufnahme oxidativ-modifizierten LDL-Cholesterols in Makrophagen,
- Hemmung der Bildung von Superoxidanionradikalen.

5

---

## Biologische Untersuchungsmethoden zur estrogenen und antioxidativen Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen

### Allen-Doisy-Test

5

#### Zielstellung

Subkutane Prüfung auf estrogenen Aktivität.

#### Prinzip

Estrogene führen bei ovariectomierten Nagern zu charakteristischen  
10 Veränderungen am Vaginalepithel. Es kommt zu einer starken Proliferation und Verhornung der oberen Zellagen. Diese Veränderungen sind im Zellbild von Vaginalabstrichen erkennbar.

Das Auftreten kernloser Hornschollen ist Ausdruck einer estrogenspezifischen Wirkung - Allen-Doisy Test - nach Dorfman R. J., (Hrsg.),  
15 Methods in hormone research, S. 72ff, Academic Press New York 1969.

#### Tiere

Weibliche Wistarratten (Stamm: Shoe : WIST  $\equiv$  Mol : WIST, n = 48) werden im Gewicht von 180 - 200 g angeliefert, randomisiert auf Versuchsgruppen (n = 3-5 Tiere/Gruppe) aufgeteilt, über ca 1 Woche an  
20 Haltungsbedingungen adaptiert und anschließend in Ursotaminnarkose ovariectomiert.

Haltung: In Makrolonkäfigen Typ M IV in kontrolliert belichteten  
Räumen (12 Stunden Licht/12 Stunden Dunkelheit).

Fütterung: Standardhaltungsdiät für Ratten und Mäuse; Trinkwasser ad libitum.  
25

#### Formulierung und Applikation der Testsubstanzen

Die Prüfsubstanzen zur subkutanen und oralen Applikation in Benzylbenzoat/Ricinusöl (1+4) bzw. in Myrj (85 mg Myrj in 100 ml 0,9% w/v NaCl-Lösung) werden formuliert.

30 Das Applikationsvolumen beträgt 0,2 ml/Tier.

- Nach der Eiwaage wird die jeweilige Substanz in Benzylbenzoat durch Behandlung im Ultraschallbad (30 Minuten bei ca 60°C Wassertemperatur) gelöst und anschließend die entsprechende Menge Ricinusöl zugegeben..

- Nach der Eiwaage wird in Myrj suspendiert (unter Zugabe einer geringen Menge Zirkoniumkügelchen) durch Behandlung im Ultraschallbad (30 Minuten bei ca 60°C Wassertemperatur).

#### **Versuchsdurchführung**

- 5 Ratten mit einem Gewicht von ca 200 g werden in Ursotaminnarkose ovariectomiert, ca 2 Wochen danach erfolgt die Untersuchung der Tiere auf das Vorliegen eines Kastratenvaginalzellbildes (Dioestrus). Danach wird einmalig subkutan appliziert (d1), Applikationsvolumen 0,2ml/Tier. 24, 48, 54 und 72 Stunden nach der einmaligen Substanzapplikation  
10 sind Vaginalabstriche abzunehmen und hinsichtlich Oestrusstadien (Dioestrus = 1; Prooestrus = 2; Oestrus = 3; Metroestrus = 4) mikroskopisch auszuwerten.

- Die Untersuchung entsprechend dem standardisierten ALLEN-DOISY Test ist nach 4 Tagen beendet. Die Tiere werden in Aethernarkose  
15 durch Dislokation der Halswirbelsäule getötet, der Uterus präpariert und die Feuchtgewichte (Uterus ohne Sekret) ermittelt. Weiterhin erfolgt die Präparation und Gewichtsermittlung der Nebennieren.

#### **Auswertung**

- Die Ergebnisse der kolpotropen Prüfung - das Auftreten oestrischer  
20 Vaginalzellbilder als Reagenten pro Dosisgruppe sowie die uterotrope Aktivität (Uterusgewichte) werden erfaßt. Die Mittelwerte der Uterusgewichte der Versuchsgruppen sind mit dem Mittelwert der Vehikelgruppe zu vergleichen und gegebenenfalls auf signifikanten Unterschied mit dem t-Test nach STUDENT zu prüfen. Die Feuchtgewichte  
25 der Nebennieren aller Gruppen werden ermittelt.

### **Eisen(II)sulfat-katalysierte Lipidperoxidationshemmung in synaptosomalen Membranfraktionen (Ratte)**

30

#### **Material und Methodik**

- Die Testung der Substanzen auf die Lipidperoxidations-Hemmwirkung nach Braugher JM. et al., The 21-Aminosteroids: Potent inhibitors of lipid peroxidation for the treatment of central nervous system trauma  
35 and ischemia, Drugs Future 14 (1989), S.141-152 und nach Buege A. et

al., Microsomal lipid peroxidation, Methods Enzymol 52 (1978), S.302-310, mittels des Malondialdehyd/Thiobarbitursäure-Assays, wie nachfolgend, durchgeführt:

#### Materialien

- 5 17 $\beta$ -Estradiol (Jenapharm GmbH), 17 $\alpha$ -Estradiol (Sigma Chemicals),  $\alpha$ -Tocopherol (Sigma Chemicals), Thiobarbitursäure (TBA; Fluka), Eisen(II)sulfat (Serva).

Alle anderen Biochemikalien sind von höchster analytischer Reinheit.

#### Reaktionsansatz

- 10 1 ml biologische Probe (enthält 0,1 mg Plasmamembranen), incl. Fenton's Reagenz und Drug. Die 1 ml Gesamtvolumen teilen sich auf in: 0,01 ml synaptosomale Membranfraktion; 0,1 ml Eisen(II)-sulfat (2 mM); 0,1 ml Wasserstoffperoxid (2 mM); bis zu 0,5 ml Testsubstanzlösung und einer anteiligen Menge an 0,9 %iger NaCl-Lösung (nicht PBS) zum
- 15 Auffüllen auf 1 ml Gesamtvolumen. Der Reaktionsansatz mit und ohne Testsubstanz enthält in jedem Fall 10 % Ethanol (total) als Vehikel.

#### Prozedere

Der Reaktionsansatz wird 30 min bei 37°C inkubiert, anschließend mit 2 ml Reagenz A abgestoppt und 10 min bei konstanten 80°C inkubiert.

- 20 Nach dem Abkühlen in einem Eisbad (10 min) wird die Probe in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert (1.000 x g; 4°C). Der Überstand wird (bis zu 2 Std. stabil) bei 535 nm gegen den Blindwert gemessen, der bis auf die-Membranfraktion alle Reagenzien enthält.

Als Vergleichswert dient der Ansatz, der neben der Membranfraktion

- 25 Fenton's Reagenz und 10 % des Vehikels Ethanol enthält.

Zusammensetzung des Reagenz A:

15 % (w/v) Trichloressigsäure (15 g); 0,375 % (w/v) Thiobarbitursäure (375 mg); 0,25 N HCl (2,11 ml konz. HCl) in 100 ml wäßriger Lösung.

Die Testsubstanzen werden vorzugsweise in 95 %igem Ethanol in Form

30 20 millimolarer Stammlösungen (Haltbarkeit bei minus 20°C, stabil über den Zeitraum von 3 Monaten) angesetzt und unmittelbar vor Versuchsbeginn entsprechend verdünnt. Geprüft wird im Dosierungsbereich 0,1 bis 150  $\mu$ M.

- In allen Versuchsansätzen wird eine entsprechende Standardsubstanz
- 35 mitgeführt.



**Bewertungsparameter**

- Dosis-Wirkungsanalyse der Test- und Standardsubstanzen.
- Ermittlung der Lipidperoxidationshemmwerte mit mindestens fünf Substanzkonzentrationen im Hemmbereich 30 bis 70 %, bezogen auf die Testwerte mit Vehikel (vorzugsweise Ethanol) und ohne Substanzeffekt.
- Die Bewertung der Substanzen wird in  $IC_{50}$ -Werten (mikromolare Testkonzentrationen bei 50 % Hemmung der Eisen(II)-katalysierten Lipidperoxidation) ausgewiesen.

**Hemmung der Fe(II)-Autooxidation und Stimulierung der Fe(III)-Reduktion****1. Fe(II)-Oxidations-Assay****Material und Methodik**

- Die Testung der Substanzen auf die Fe(II)-Autooxidation-Hemmwirkung erfolgt nach Ruiz-Larrea B. et al., Antioxidant effects of estradiol and 2-hydroxyestradiol on iron-induced lipid peroxidation of rat liver microsomes. Steroids 39 (1994), S. 383-388 und Ruiz-Larrea B. et al., Effects of estrogens on the redox chemistry of iron: A possible mechanism of the antioxidant action of estrogens, Steroids 60 (1995), S. 780-783.
- Alle Autooxidations-Experimente der Fe(II)-Ionen wurden in wäßrigen Lösungen ausgeführt, die synaptosomal Membrane/Lipidfraktionen enthalten. 1.0 ml biologische Probe, enthaltend 50  $\mu$ M Fe(II)sulfat, 45 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7.4) und 0.08 mg des synaptosomalen Proteins wurde mit den in Ethanol (10% v/v) gelösten Testsubstanzen für 10 min in einem Wasserbad bei 37°C inkubiert, anschließend durch Zugabe von 50  $\mu$ L einer 0,32 M 1,10-Phenanthrolin-Lösung gestoppt und die Extinktion des Fe(II)-Phenanthroline-Komplexes bei 510 nm gemessen.

**Materialien**

17 $\beta$ -Estradiol (Jenapharm GmbH), 17 $\alpha$ -Estradiol (Sigma Chemicals), 2-Hydroxy-17 $\beta$ -estradiol und 4-Hydroxy-17 $\beta$ -estradiol (Sigma Chemicals), Thiobarbitursäure (TBA; Fluka), Eisen(II)sulfat (Serva).

- 5 Alle anderen Biochemikalien sind von höchster analytischer Reinheit. Die Testsubstanzen werden vorzugsweise in 95 %igem Ethanol in Form 20 millimolarer Stammlösungen angesetzt und unmittelbar vor Versuchsbeginn entsprechend verdünnt. Geprüft wird im Dosierungsbereich 0,1 bis 150  $\mu$ M.

- 10 In allen Versuchsansätzen wird eine entsprechende Standardsubstanz mitgeführt.

**Bewertungsparameter**

- Dosis-Wirkungsanalyse der Test- und Standardsubstanzen.

15

**2. Fe(III)-Reduktions-Assay**

- Die Testung der Substanzen auf die Stimulierung der Fe(III)-Reduktion erfolgte nach Ruiz-Larrea B. et al., Antioxidant effects of estradiol and 2-hydroxyestradiol on iron-induced lipid peroxidation of rat liver microsomes. Steroids 39 (1994), S. 383-388 und Ruiz-Larrea B. et al., Effects of estrogens on the redox chemistry of iron: A possible mechanism of the antioxidant action of estrogens, Steroids 60 (1995), S. 780-783.

- 25 Die biologische Probe enthält folgende Komponenten: 25  $\mu$ M Fe(III)chlorid in 150 mM Tris-HCl (pH 7.4), 15 mM 1,10-Phenanthroline und die zu testende Prüfsubstanz, gelöst im Vehikel Ethanol. Die Bildung des Fe(II)-Phenanthrolin-Komplexes wird spektrophotometrisch bei 510 nm registriert.

30

**Hemmung der Aufnahme oxidativ-modifizierten LDL-Cholesterols in Makrophagen**

- Die Messung der Aufnahme von oxidativ-modifiziertem LDL in murinen Makrophagen und Blutmakrophagen menschlichen Ursprungs wurde
- 35

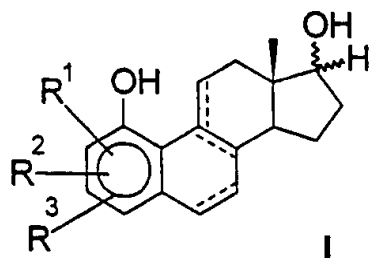
- mittels der Zellkulturmethode nach Fisher M. et al, A 21-aminosteroid inhibits oxidation of human low density lipoprotein by human monocytes and copper, *Atherosclerosis* 90 (1991), S. 197-202 bzw. nach Leake D.S. und Rankin, S.M., The oxidative modification of Low-Density Lipoproteins by macrophages, *Biochem J.* 270 (1990), S. 741-748 ermittelt.
- 5

### **Hemmung der Bildung von Superoxidanionradikalen**

- 10 Die Messung der Xanthinoxidase-hemmenden Wirkung bei Verwendung von Linolensäure als Bildner für Superoxidanionradikale wird nach Laihia J.K. et al., Lucigenin and linoleate enhanced chemiluminescent assay for superoxide dismutase activity, *Free Rad. Biol. Med.* 14 (1993) S. 457-461 mittels einer Lucigenin/Luminol-verstärkten
- 15 Xanthin/Xanthinoxidase-abhängigen Chemilumineszenzreaktion ermittelt.
-

## Patentansprüche

1. Nichtestrogene Derivate des Estradiols mit antioxidativer Aktivität der allgemeinen Formel I,

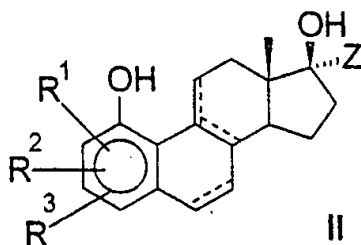


$R^1 = H, OH$

$R^2, R^3 = H, CH_3$

die ein bis zwei Doppelbindungen enthalten kann, wobei die Hydroxygruppen der Estradiolderivate als Ether, Ester oder Sulfamate vorliegen können, ausgenommen 4-Methyl-estra-1,3,5(10)-trien-1,17 $\beta$ -diol.

2. Nichtestrogene Derivate des 17 $\beta$ -Estradiols mit antioxidativer Aktivität der allgemeinen Formel II,



$R^1 = H, OH$

$R^2, R^3 = H, CH_3$

$Z = (CH_2)_n APh,$

wobei  $n = 0, 1$

$A = \text{Bindung für } n = 0, 1,$

O, S, Se für  $n = 1,$

di ein bis zwei Doppelbindungen enthalten kann,  
mit einem 17 $\alpha$ -Substituenten Z,

der eine Phenylgruppe Ph enthält ,

5            die mit 1 bis 2 Hydroxygruppen und 0 bis 2 Methylgruppen  
             oder mit einer Dimethylaminophenylgruppe und 0 bis 2  
             Methylgruppen funktionalisiert ist,

wobei die Hydroxygruppen der 17 $\beta$ -Estradiolderivate als Ether,  
Ester oder Sulfamate vorliegen können.

10

---

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE 98/01392

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07J1/00 C07J31/00 C07J41/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07J A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>PARVIZI N ET AL: "Catecholestrogens in the brain: neuroendocrine integration" JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY, vol. 19, no. 1B, 1983, pages 615-618, XP002081763 see the whole document</p> <p style="text-align: center;">--- -/--</p>	1



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 October 1998

Date of mailing of the international search report

05/11/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Watchorn, P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 98/01392

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	E. HECKER ET AL: "Umlagerung von Abkömmlingen des Östra-p-chinols-(10.beta.) in Trifluoroacetanhydrid, ein Beitrag zum Mechanismus der Dienon-Phenol-Umlagerung von p-Chinolen" CHEMISCHE BERICHTE., vol. 97, no. 7, 1964, pages 1940-1951, XP002081764 WEINHEIM DE see Page 1941, Compound IVd ; Page 1942, Compound IIe ---	1
X	J. FREI ET AL: "122. Photochemische Reaktionen. Die Photoisomerisierung von 3-Oxo-delta-1,4-Steroiden in Dioxanlösung Strukturaufklärung der Photoisomeren und Bestimmung der Umlagerungs-Sequenzen" HELVETICA CHIMICA ACTA, vol. 49, no. 3, 1966, pages 1049-1105, XP002081765 BASEL CH see Page 1051, 1054 and 1071, Compound 17b ; Page 1071-1072, Tabel 7, Compounds 17a, 18a, 84c, 51a, 83a, 51b, c see Page 1070, Compound 79 and 80b ---	1
X	NISHINO Y ET AL: "Comparative evaluation of the dissociation rate between the vaginotropic and uterotropic activities of 1-hydroxy-1,3,5(10)-estratriene derivatives with natural and unnatural configuration at C8 using ovariectomized mice" STEROIDS., vol. 28, no. 3, September 1976, pages 325-337, XP002081766 SAN FRANCISCO US see Page 328, Compound VII see page 330, paragraph 4 ---	1
X	SCHWARTZ J A ET AL: "Ligand-mediated modulation of estrogen receptor conformation by estradiol analogs" BIOCHEMISTRY., vol. 32, no. 38, 28 September 1993, pages 10109-10115, XP002081767 EASTON, PA US see page 10111, column 2, last paragraph ---	1
X	US 3 037 033 A (R. L. CLARKE ET AL) 29 May 1962 see page 3, line 22 - line 28; examples 6-8 ---	1

-/--

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 98/01392

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 24 09 991 A (SCHERING AG) 4 September 1975 see example 16 ---	1
X	D. M. PIATAK ET AL: "Cerium(IV) Oxidation of 4-Methyloestra-1,3,5(10)-trienes" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, no. 14, 21 July 1971, page 772 XP002081768 LETCWORTH GB see Page 772, Compound IIa,c and IV ---	1
X	ZYDOWSKY T M ET AL: "Preparation and acid-catalyzed rearrangements of a steroidal 1,4-quinol" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1., no. 8, 1980, pages 1679-1681, XP002081769 LETCWORTH GB see Page 1679, Compound 1,6,12 and 15 ---	1
X	CAMBIE R C ET AL: "Aromatic steroids. II. Chromium trioxide oxidation of some estra-1,3,5(10)-trienes" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, SECTION C: ORGANIC CHEMISTRY., no. 9, 1969, pages 1234-1240, XP002081770 LETCWORTH GB see page 1238, column 1, last paragraph - column 2, paragraph 3 ---	1
A	DE 43 38 316 A (JENAPHARM GMBH) 11 May 1995 ---	1,2
	see the whole Document, in particular Page 10, Table 1 ---	
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 015, no. 306 (C-0856), 6 August 1991 & JP 03 115222 A (OYO SEIKAGAKU KENKYUSHO), 16 May 1991 see abstract ---	1
A	EP 0 688 785 A (APPLIED BIOCHEMISTRY INST) 27 December 1995 see page 24; table 1 ---	1
	-/--	



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/DE 98/01392

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>TANG M ET AL: "SUPERIOR AND DISTINCT ANTIOXIDANT EFFECTS OF SELECTED ESTROGEN METABOLITES ON LIPID PEROXIDATION. THE DATA ARE COMPARED WITH THOSE OBTAINED WITH OTHER ESTROGENS, INCLUDING 17ALPHA-DIHYDROEQUILENIN" METABOLISM, CLINICAL AND EXPERIMENTAL, vol. 45, no. 4, April 1996, pages 411-414, XP002055052</p> <p>see page 413, column 2; tables 3,4</p> <p>-----</p>	1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 98/01392

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3037033	A	29-05-1962	NONE	
DE 2409991	A	04-09-1975	CH 601345 A	14-07-1978
			DD 116612 A	05-12-1975
			DK 72075 A,B,	27-10-1975
			FR 2262047 A	19-09-1975
			GB 1502635 A	01-03-1978
			NL 7502310 A,C	29-08-1975
			US 3956348 A	11-05-1976
DE 4338316	A	11-05-1995	AU 8104294 A	29-05-1995
			CA 2176368 A	18-05-1995
			WO 9513287 A	18-05-1995
			EP 0728140 A	28-08-1996
			JP 9507471 T	29-07-1997
EP 0688785	A	27-12-1995	JP 5170786 A	09-07-1993
			JP 5170790 A	09-07-1993
			JP 5170787 A	09-07-1993
			JP 5202092 A	10-08-1993
			JP 5294991 A	09-11-1993
			JP 5294987 A	09-11-1993
			CA 2078804 A	02-04-1993
			DE 69220639 D	07-08-1997
			DE 69220639 T	16-10-1997
			EP 0535595 A	07-04-1993
			US 5739302 A	14-04-1998
			US 5405944 A	11-04-1995

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen

PCT/DE 98/01392

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 C07J1/00 C07J31/00 C07J41/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07J A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	PARVIZI N ET AL: "Catecholestrogens in the brain: neuroendocrine integration" JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY, Bd. 19, Nr. 1B, 1983, Seiten 615-618, XP002081763 siehe das ganze Dokument --- -/--	1



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

22. Oktober 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05/11/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Watchorn, P

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen

PCT/DE 98/01392

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	E. HECKER ET AL: "Umlagerung von Abkömmlingen des Östra-p-chinols-(10.beta.) in Trifluoroacetanhydrid, ein Beitrag zum Mechanismus der Dienon-Phenol-Umlagerung von p-Chinolen" CHEMISCHE BERICHTE., Bd. 97, Nr. 7, 1964, Seiten 1940-1951, XP002081764 WEINHEIM DE siehe Seite 1941, Verbindung IVd ; Seite 1942, Verbindung IIe ---	1
X	J. FREI ET AL: "122. Photochemische Reaktionen. Die Photoisomerisierung von 3-Oxo-delta-1,4-Steroiden in Dioxanlösung Strukturaufklärung der Photoisomeren und Bestimmung der Umlagerungs-Sequenzen" HELVETICA CHIMICA ACTA, Bd. 49, Nr. 3, 1966, Seiten 1049-1105, XP002081765 BASEL CH siehe Seite 1051, 1054 und 1071, Verbindung 17b ; Seite 1071-1072, Tabelle 7, Verbindungen 17a,18a,84c,51a,83a,51b,c siehe Seite 1070, Verbindungen 79 und 80b ---	1
X	NISHINO Y ET AL: "Comparative evaluation of the dissociation rate between the vaginotropic and uterotropic activities of 1-hydroxy-1,3,5(10)-estratriene derivatives with natural and unnatural configuration at C8 using ovariectomized mice" STERIODS., Bd. 28, Nr. 3, September 1976, Seiten 325-337, XP002081766 SAN FRANCISCO US siehe Seite 328, Verbindung VII siehe Seite 330, Absatz 4 ---	1
X	SCHWARTZ J A ET AL: "Ligand-mediated modulation of estrogen receptor conformation by estradiol analogs" BIOCHEMISTRY., Bd. 32, Nr. 38, 28. September 1993, Seiten 10109-10115, XP002081767 EASTON, PA US siehe Seite 10111, Spalte 2, letzter Absatz ---	1
X	US 3 037 033 A (R. L. CLARKE ET AL) 29. Mai 1962 siehe Seite 3, Zeile 22 - Zeile 28; Beispiele 6-8 ---	1

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 98/01392

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 24 09 991 A (SCHERING AG) 4. September 1975 siehe Beispiel 16 ---	1
X	D. M. PIATAK ET AL: "Cerium(IV) Oxidation of 4-Methyloestra-1,3,5(10)-trienes" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, Nr. 14, 21. Juli 1971, Seite 772 XP002081768 LETCHWORTH GB siehe Seite 772, Verbindungen IIa,c und IV ---	1
X	ZYDOWSKY T M ET AL: "Preparation and acid-catalyzed rearrangements of a steroidal 1,4-quinol" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1., Nr. 8, 1980, Seiten 1679-1681, XP002081769 LETCHWORTH GB siehe Seite 1679, Verbindungen 1,6,12 und 15 ---	1
X	CAMBIE R C ET AL: "Aromatic steroids. II. Chromium trioxide oxidation of some estra-1,3,5(10)-trienes" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, SECTION C: ORGANIC CHEMISTRY., Nr. 9, 1969, Seiten 1234-1240, XP002081770 LETCHWORTH GB siehe Seite 1238, Spalte 1, letzter Absatz - Spalte 2, Absatz 3 ---	1
A	DE 43 38 316 A (JENAPHARM-GMBH) 11. Mai 1995 siehe das ganze Dokument, insbesondere Seite 10, Tabelle 1 ---	1,2
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 015, no. 306 (C-0856), 6. August 1991 & JP 03 115222 A (OYO SEIKAGAKU KENKYUSHO), 16. Mai 1991 siehe Zusammenfassung ---	1
A	EP 0 688 785 A (APPLIED BIOCHEMISTRY INST) 27. Dezember 1995 siehe Seite 24; Tabelle 1 ---	1

-/--



# INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 98/01392

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 3037033	A	29-05-1962	KEINE		
-----					
DE 2409991	A	04-09-1975	CH	601345 A	14-07-1978
			DD	116612 A	05-12-1975
			DK	72075 A,B,	27-10-1975
			FR	2262047 A	19-09-1975
			GB	1502635 A	01-03-1978
			NL	7502310 A,C	29-08-1975
			US	3956348 A	11-05-1976
-----					
DE 4338316	A	11-05-1995	AU	8104294 A	29-05-1995
			CA	2176368 A	18-05-1995
			WO	9513287 A	18-05-1995
			EP	0728140 A	28-08-1996
			JP	9507471 T	29-07-1997
-----					
EP 0688785	A	27-12-1995	JP	5170786 A	09-07-1993
			JP	5170790 A	09-07-1993
			JP	5170787 A	09-07-1993
			JP	5202092 A	10-08-1993
			JP	5294991 A	09-11-1993
			JP	5294987 A	09-11-1993
			CA	2078804 A	02-04-1993
			DE	69220639 D	07-08-1997
			DE	69220639 T	16-10-1997
			EP	0535595 A	07-04-1993
			US	5739302 A	14-04-1998
			US	5405944 A	11-04-1995
-----					